



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

**Evaluación *In vitro* del efecto antimicrobiano del
péptido saIL-8 α contra cepas patógenas de *Weissella*
ceti de Puno**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria

AUTOR

Jessira Betzabet AMESQUITA SOSA

ASESOR

Mg. Nieves Nancy SANDOVAL CHAUPE

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Amesquita J. Evaluación *In vitro* del efecto antimicrobiano del péptido saIL-8 α contra cepas patógenas de *Weissella ceti* de Puno [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2023.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Jessira Betzabet Amesquita Sosa
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	76999512
URL de ORCID	-----
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Nieves Nancy Sandoval Chaupe
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	07011047
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-0112-9183
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Siever Miguel Morales Cauti
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10685645
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Adhemir Ayrton Valera Andrade
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	46129107
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Guadalupe Victoria Contreras Salazar
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07244311
Datos de investigación	
Línea de investigación	C.2 Sanidad acuícola

Grupo de investigación	Grupo de Investigación en Sanidad Acuícola (GRISANAC)
Agencia de financiamiento	Fondos propios
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Dirección: Av. Circunvalación 2800. Latitud: -12.08348 Longitud: -76.984573
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Julio 2022- Diciembre 2022
URL de disciplinas OCDE	Ciencia Veterinaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria**



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL
TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA**

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día **jueves 21 de setiembre de 2023**, a las **12:00 horas**, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° **0157-EPMV/FMV-2023**, integrado por los siguientes profesores:

MV. Mg.	Morales Cauti Siever Miguel	Presidente del Jurado
MV. Mg.	Sandoval Chaupe Nieves Nancy	Asesor de la Tesis
Blgo. Bach.	Contreras Salazar Guadalupe Victoria	Miembro del Jurado
MV. Mg.	Valera Andrade Adhemir Ayrtón	Miembro del Jurado

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, la Bachiller Doña: **AMESQUITA SOSA JESSIRA BETZABET**, para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

**“EVALUACIÓN *In vitro* DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL
PÉPTIDO SAIL-8A CONTRA CEPAS PATÓGENAS DE *WEISSELLA CETI* DE
PUNO”**

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria de la Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **diecisiete (17)**.

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **13:10 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuádruplicado los integrantes del Jurado:



Firmado digitalmente por MORALES
CAUTI Siever Miguel FAU
20146092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 02.10.2023 09:35:38 -05:00

Morales Cauti, Siever Miguel: MV. Mg. Prof. Asociado TC

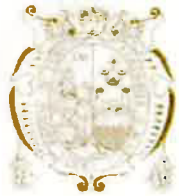


Firmado digitalmente por SANDOVAL
CHAUPE Nieves Nancy FAU
20146092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 02.10.2023 17:32:52 -05:00

Sandoval Chaupe, Nieves Nancy: MV. Mg. Prof. Asociado DE

Contreras Salazar, Guadalupe Victoria: Blgo. Bach Prof. Asociado DF

Valera Andrade, Adhemir Ayrtón: MV. Mg. Prof. Auxiliar DE



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
Facultad de Medicina Veterinaria
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



Trabajo sustentado y aprobado ante el Jurado designado por la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria mediante Resolución Directoral N° 0157-EPMV/FMV-2023

PRESIDENTE:

 UNMSM
Firmado digitalmente por MORALES
CAUTI Siever Miguel FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 02.10.2023 08:36:30 -05:00

.....
MORALES CAUTI SIEVER MIGUEL

MIEMBROS :

 UNMSM
Firmado digitalmente por SANDOVAL
CHAUPE Nieves Nancy FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 02.10.2023 17:33:41 -05:00

.....
SANDOVAL CHAUPE NIEVES NANCY
ASESOR DE LA TESIS


.....
CONTRERAS SALAZAR GUADALUPE VICTORIA


.....
VALERA ANDRADE ADHEMIR AYRTON

San Borja, 26 de setiembre del 2023

V° B°

 UNMSM
Firmado digitalmente por DELGADO
CASTRO Alfredo FAU 20148092282
soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 20.10.2023 14:41:38 -05:00

.....
Dr. Alfredo Delgado Castro
Director EPMV (e)
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria



CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo **Nieves Sandoval Chaupe** en mi condición de asesor acreditado con la Resolución Decanal N° RD No.052-IVITA/FMV-2021 de la tesis/monografía/informe de investigación/trabajo académico, cuyo título es **Evaluación *In vitro* del efecto antimicrobiano del péptido salL-8 α contra cepas patógenas de *Weissella ceti* de Puno**, presentado por el bachiller/magíster/egresado/licenciado/estudiante **Jessira Betzabet Amesquita Sosa** para optar el grado/título/especialidad de **Médico Veterinario** CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 7 % de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado/ título/ especialidad correspondiente.

Firma del Asesor

DNI:07011047

Nombres y apellidos del asesor: Nieves Sandoval Chaupe



Agradecimientos

A Dios por permitirme cumplir el sueño de ser una gran Médica Veterinaria.

A mis padres por ser mi ayuda incondicional y mi fortaleza en cada etapa de mi vida.

A Santos por todo su apoyo a lo largo de la carrera.

A mis hermanas Angie y Nagely por darme apoyo moral en todo momento de mi vida.

A mi novio Fernando por ser mi compañero a lo largo de la carrera y su apoyo incondicional.

A toda mi familia unida y mejores amigos que me han brindado su amistad verdadera.

Gracias a Gonzalo, Hel y Adhemir por su apoyo en todo el proceso de este trabajo.

Gracias a la Doctora Nieves por ser mi maestra, asesora y amiga a lo largo de toda la carrera.

Índice

RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE CUADROS	vii
I. INTRODUCCION	viii
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	x
2.1. SITUACIÓN ACTUAL DE LA ACUICULTURA EN EL PERÚ.....	xi
2.2. TRUCHA ARCOÍRIS	xii
2.3. WEISELLOSIS	xiii
2.3.1 <i>Weissella</i> sp.....	xiii
2.4. RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS.....	xv
2.5. PÉPTIDO ANTIMICROBIANO (AMP)	xvi
III. MATERIALES Y MÉTODOS	xix
3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN Y PERIODO DE DURACIÓN.....	xix
3.2 DESCRIPCIÓN DEL MATERIAL EXPERIMENTAL	xx
3.3 METODOLOGÍA.....	xxi
3.3.1. Reactivación de la cepa.....	xxi
3.3.2. Curva de crecimiento de <i>Weissella ceti</i>	xxi
3.3.3. Conteo de UFC (Unidad formadora de colonias)	xxiii
3.3.4 Ensayo en las micro placas retando a la bacteria con el péptido	xxv
3.4 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	xxvi
V. RESULTADOS	xxvii
VI. DISCUSIÓN	xxix
VII. CONCLUSIONES	xxxii
VIII. RECOMENDACIONES	xxxii
IX. BIBLIOGRAFÍA CITADA	xxxii

RESUMEN

Diversas enfermedades bacterianas afectan a la actividad truchícola del país. Entre estas tenemos a *Weissella ceti*, una bacteria grampositiva emergente que se ha introducido recientemente al país, produciendo mortalidades variables, que van desde 40 hasta 60% y preocupan por afectar a truchas de engorde. Los antibióticos son el recurso más utilizado para el control de las infecciones bacterianas, lo que está provocando la aparición de bacterias resistentes, así mismo, en el caso de *W. ceti*, el tratamiento con antimicrobianos no es efectivo. Una alternativa a esta problemática son los péptidos antimicrobianos (AMP), que muestran alta actividad bactericida. Recientemente se ha sintetizado el péptido ssIL-8 α , derivado de IL-8 de salmón del atlántico (*Salmo salar*), el cual ha demostrado tener actividad antibacteriana frente a bacterias gramnegativas. El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto antibacteriano del péptido ssIL-8 α sobre la viabilidad de una cepa patógena de *Weissella ceti* del Perú, procedente de un brote en el departamento de Puno. Primero se reactivó la cepa de *Weissella ceti* en el medio agar sangre, luego se realizó la curva de crecimiento y posteriormente el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC), con estos datos se procedió con el protocolo de Santana (2018), usando la técnica de microdilución en placa, donde se probó diferentes concentraciones de péptido (10 μ M, 20 μ M, 30 μ M, 40 μ M, 50 μ M, 60 μ M, 70 μ M, 80 μ M, 90 μ M y 100 μ M) contra la bacteria *Weissella ceti*. Los resultados evidencian actividad bactericida dosis dependiente, alcanzando su mayor efecto a la concentración de 100 μ M. Este estudio muestra resultados alentadores para la acuicultura ofreciendo una alternativa al uso de los antibióticos, ya que su mal uso induce a resistencia en las bacterias patógenas siendo actualmente un gran problema y de mucha preocupación tanto a nivel mundial para la salud animal como para la salud pública.

Palabras claves: *Weissella ceti*, péptido antimicrobiano (AMP), actividad bactericida

ABSTRACT

Various bacterial diseases affect the trout farming activity in the country. Among these there are *Weissella ceti*, an emerging Gram-positive bacterium that has recently been introduced into the country, producing variable mortalities, ranging from 40 to 60% and worrying about affecting fattening trout. Antibiotics are the most used resource for the control of bacterial infections, which is causing the appearance of resistant bacteria, likewise, in the case of *W. ceti*, treatment with antimicrobials is not effective. An alternative to this problem are antimicrobial peptides (PAM), which show high bactericidal activity. The ssIL-8 α peptide, derived from IL-8 from Atlantic salmon (*Salmo salar*), It has recently been synthesized and It has been shown to have antibacterial activity against Gram-negative bacteria. The objective of this study was to determine the antibacterial effect of the ssIL-8 α peptide on the viability of a field pathogenic strain of *Weissella ceti* from an outbreak in the department of Puno - Perú. First, the *Weissella ceti* strain was reactivated in TSB broth, blood agar and TSA agar, then the growth curve was performed and later the colony-forming unit (CFU) count, with these data the Santana protocol was carried out, using the plate microdilution technique, where different peptide concentrations (10 μ M, 20 μ M, 30 μ M, 40 μ M, 50 μ M, 60 μ M, 70 μ M, 80 μ M, 90 μ M y 100 μ M) were tested against the *Weissella ceti* bacterium. The results showed an apparent dose-dependent bactericidal activity, reaching its greatest effect at a concentration of 100 μ M. This study shows encouraging results for aquaculture, offering an alternative to the use of antibiotics, since their misuse induces resistance in pathogenic bacteria, currently being a great problem and of great concern both worldwide for animal health and for human public health.

Keywords: *Weissella ceti*, antimicrobial peptide (AMP), bactericidal activity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama circular que muestra la distribución de aminoácidos de un péptido modelo hipotético. Este péptido modelo adopta una estructura helicoidal, con una distribución de aminoácidos cargados positivamente en un lado de la molécula y aminoácidos hidrofóbicos en el otro lado.

Figura 2. Modelo Shai-Matsuzaki-Huang para el mecanismo de acción de los PAM. Representación esquemática de la agregación de péptidos e interacción con la membrana celular (a), desplazamiento de lípidos inducido por péptidos (b) e inserción de péptidos en la bicapa lipídica de la membrana (c) seguido de la eventual muerte celular (d).

Figura 3. Representación gráfica de la curva de crecimiento de *Weissella ceti* de las tres repeticiones en función del tiempo (x) y densidad óptica (y)

Figura 4. Representación gráfica del promedio de los resultados de la curva de crecimiento de *Weissella ceti*.

Figura 5. Representación gráfica del conteo de UFC de *Weissella ceti* en función del tiempo (x) y densidad óptica (y)

Figura 6. Representación gráfica que relaciona el Logaritmo de las UFC con la absorbancia donde se genera una línea recta.

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Modelo para inocular en la microplaca de 96 pocillos.

Cuadro 2. Conteo de Unidades formadoras de colonias (UFC) de placas sembradas a diferentes concentraciones del péptido ssIL-8 α enfrentadas a *Weissella ceti*.

Cuadro 3. Conteo de Unidades formadoras de colonias (UFC) de placas sembradas a diferentes concentraciones del péptido ssIL-8 α enfrentadas a *E. coli*.

I. INTRODUCCION

La producción mundial de animales acuáticos fue de 178 millones de toneladas en 2020, lo que evidenció un ligero descenso en comparación del año 2018 que se obtuvo el récord histórico de 179 millones de toneladas. La producción se obtuvo de la pesca de captura que contribuyó con 90 millones de toneladas (el 51 %) y la acuicultura con 88 millones de toneladas (el 49 %). De esta producción total, se capturó en aguas marinas el 63 % (112 millones de toneladas) y en aguas continentales el 37 % (66 millones de toneladas) (FAO,2022).

La acuicultura en el Perú está en constante crecimiento, semejante a la tendencia mundial (Kleeberg y Rojas, 2012). Los alimentos acuáticos son actualmente a nivel mundial los que aportan mayor contenido proteico en la dieta de la población humana, superando a la carne de cerdo, carne de vacuno, lácteos y otros (FAO, 2022).

El Perú ha tenido un crecimiento del 29% en la última década en el sector acuícola; teniendo a la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), el langostino (*Litopenaeus vannamei*) y concha de abanico (*Argopecten purpuratus*) como las tres especies más producidas a nivel nacional. Entre los departamentos de mayor producción de truchas se tiene a Puno, Pasco y Huancavelica, en respectivo orden de importancia (Ministerio de la Producción, 2021).

La trucha es un pez que vive en aguas frías donde está muy bien a una temperatura entre 10 a 16°C, aunque el grado de tolerancia a la temperatura es amplio, pudiendo resistir temperaturas de hasta 25°C o límites inferiores cercanos a la congelación durante varios días (Aquino, 2009).

Las enfermedades con mayor prevalencia en piscigranjas truchícolas del Perú son las originadas por bacterias como *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Aeromonas salmonicida*

(Sierralta *et al.*, 2013), pero actualmente otros agentes están ocasionando mortalidades masivas como *Weissella ceti* la cual fue reportada por Medina (2020) en piscigranjas de Puno.

Las especies de *Weissella* han sido aisladas de diversos ambientes ricos en nutrientes, incluyendo alimentos fermentados, el suelo y los intestinos de muchos animales y humanos (Fusco, 2015).

Actualmente, el sector acuícola está siendo muy afectado por el impacto de enfermedades infecciosas, y existe la preocupación por el uso abusivo de antibióticos, ya que es un riesgo para la salud humana, la producción acuícola y el medio ambiente, y esto ha alentado la exploración de nuevos productos por sus actividades antibióticas (León *et al.*, 2019)

Los antibióticos son el recurso primario para combatir los brotes de diversas enfermedades bacterianas en peces, sin embargo, el abuso de ello trae peligros como la propagación de la resistencia antimicrobiana, resistencia de genes y la presencia de residuos antimicrobianos en el ambiente (Valero *et al.*, 2020). Los antimicrobianos se usan ampliamente en la acuicultura para tratar infecciones debidas a una variedad de patógenos bacterianos como *Aeromonas* sp, *Pasteurella* sp, *Yersinia ruckeri*, etc. Sin embargo, estos fármacos se administran mezclándolos con el alimento que se dispersa en el agua por lo que dosifican directamente el ambiente, teniendo en consecuencia la resistencia antimicrobiana en bacterias que son patógenos de peces y también en las que no lo son. Existe deficiencias en las formulaciones específicas para acuicultura y la carencia a su vez de información farmacológica para las especies y condiciones de cultivo nacionales (Mesías,2019). En el estudio realizado por Liu *et al.*, (2009) encontraron resistencia hacia varios tipos de antibióticos por parte del género *Weissella*, como contra la bacitracina, furadantina, gentamicina, kanamicina, neomicina, norfloxacin, ofloxacin, rifampicina, estreptomycin, sulfametoxazol/ trimetoprima, tobramicina y vancomicina. Figueredo *et al.*, (2012) encontró resistencia a la vancomicina.

En los últimos años se han estudiado alternativas para evitar la resistencia a los antibióticos tanto para la medicina humana como la medicina veterinaria, entre una de ellas tenemos a los péptidos antimicrobianos que se presentan como una alternativa a los antibióticos, ya que pueden actuar contra una amplia gama de patógenos y por su modo de acción particular, que implica más de un mecanismo, parecen obstaculizar la adquisición de resistencia por parte de las bacterias objetivo, como suele ocurrir con antibióticos tradicionales.

Los péptidos antimicrobianos (AMP) generalmente se consideran un componente esencial de la inmunidad innata, por lo que proporcionan la primera línea de defensa contra una amplia gama de patógenos (Shabir *et al.*, 2018)

En general, los AMP de los peces han mostrado función antimicrobiana, capacidad para modular el sistema inmune, y presentar actividades antioxidantes o antitumorales. Fernandes y colaboradores (2003) demostraron que la Oncorincina II, AMP derivado de histona, aislado y purificado a partir de la secreción mucosa de piel de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), posee una actividad antimicrobiana significativa tanto contra bacterias grampositivas como gramnegativas.

Por lo anterior, en el presente estudio, se evaluó la actividad antibacteriana del péptido ssIL-8 α en una cepa de campo patógena de *Weissella ceti* del Perú.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. SITUACIÓN ACTUAL DE LA ACUICULTURA EN EL PERÚ

La acuicultura en Perú ha experimentado un notable crecimiento en los últimos años, convirtiéndose en una actividad importante para la economía del país (Sánchez *et al.*, 2021). Según el Ministerio de la Producción, la producción acuícola peruana registró un incremento del 7% en el 2020, en comparación al año anterior (Ministerio de la Producción, 2021).

En cuanto a la comercialización, la acuicultura peruana se orienta tanto al mercado nacional como internacional, siendo los principales destinos de exportación Estados Unidos, Europa y Asia (Cruz *et al.*, 2020). Además, se están realizando esfuerzos para promover el consumo de productos acuícolas en el mercado interno (Fernández *et al.*, 2020).

Según Mendoza, Berger y Berger (2016), la cosecha acuícola en el año 2015 alcanzó aproximadamente 85 mil toneladas de las cuales el 51% provenientes de aguas continentales y un 49% de aguas marinas. En los años 2012 y 2015 hubo bajas considerables de los cultivos de concha de abanico ya que fueron afectados por eventos naturales adversos (PRODUCE, 2015). Pero en el año 2021 hubo un aumento en las principales cosechas en el Perú como la concha de abanico (36.4 %), trucha (34.2 %), langostino (24.2 %), tilapia (2.3 %), paco (1.8 %) y otros (1.1 %) (Ministerio de producción, 2021).

Según el Ministerio de Producción (2021), los departamentos de mayor producción de trucha son Puno con 63.3 % (32704 toneladas), Pasco 55.1 % (28467 toneladas), Huancavelica 10 % (5164 toneladas) y otros.

Sin embargo, la acuicultura peruana aún enfrenta desafíos como la falta de infraestructura, tecnologías adecuadas, la inseguridad alimentaria y la contaminación de cuerpos de agua (Vásquez *et al.*, 2019).

En general, la acuicultura en el Perú tiene un gran potencial para seguir creciendo y contribuyendo al desarrollo económico del país, siempre que se lleve a cabo de manera

responsable y sostenible, cuidando los recursos naturales y promoviendo la innovación y la tecnología.

2.2. TRUCHA ARCOÍRIS

La trucha es un pez que vive a una temperatura del agua que oscilan entre 0 a 27 °C y para su correcto cultivo siempre debe poseer abundancia de este recurso (FONDEPES, 2004).

La producción de la trucha arcoíris está determinada directamente en función a la calidad y cantidad de agua con la cual dispone la unidad productiva.

El inicio de la producción inicia desde que llegan las ovas a la piscigranja, etapa donde se tiene el mejor cuidado al manejo de ello y la temperatura constante, todo ello depende para su viabilidad. (FONDEPES, 2004).

En la fase larvaria que dura aproximadamente de 15 a 30 días también muy dependiente de la temperatura y alimentación que empiezan a recibir. Luego inicia la fase de alevinaje, esta etapa comprende el cultivo de trucha arco iris, desde su talla promedio de siembra ≥ 5.0 cm hasta alcanzar los 10 cm y peso promedio de 12.0 g aproximadamente. Esta fase tiene una duración aproximada de 03 meses dependiendo de la temperatura del agua. (FONDEPES, 2014).

La fase Juvenil, comprende el cultivo de trucha arco iris, desde su talla promedio de 10 cm hasta alcanzar los 17 cm, con peso promedios de 68.0 g, aproximadamente. Esta fase tiene una duración aproximada de 02 meses, en condiciones normales de crianza.

La fase de engorde comprende el cultivo de trucha arco iris, desde su talla promedio de 17 cm hasta alcanzar los 26 cm., equivalente a un peso promedio de 250 g (tamaño plato). Esta fase tiene una duración aproximada de 3 meses. (FONDEPES, 2014).

2.3. WEISELLOSIS

Esta enfermedad es causada por la bacteria *Weissella ceti* la cual ha sido reportada en los últimos años en las piscigranjas presentando una signología que incluyen coloración oscura de la piel, natación letárgica en el agua, exoftalmia bilateral, opacidad corneal, hemorragia ocular y ruptura ocasional de la córnea. Las mortalidades masivas coinciden con las altas temperaturas estacionales del agua oscilando entre 18 y 20 ° C (Welch, 2013).

2.3.1 *Weissella spp.*

El género *Weissella spp.* comprende microorganismos grampositivos, catalasa negativa, no son formadoras de esporas, inmóviles (Ladner *et al.*, 2013) y poseen forma de cocobacilo (Fusco, 2015; Vela *et al.*, 2011). Las especies de *Weissella* han sido aisladas de diversos ambientes ricos en nutrientes, incluyendo los alimentos fermentados, el suelo y los intestinos de muchos animales. También la encontramos en humanos (Fusco, 2015).

Entre las especies, *W. ceti* ha sido la causante de mortalidad en truchas arcoíris. Esta es una bacteria con forma de bacilo siendo gram positiva, 0,2 mm de ancho y 1,5 mm de largo (Welch, 2014). Estas bacterias forman colonias pequeñas (25 mm), blancas, crece muy bien en agar sangre mostrando actividad alfa-hemolítica, se desarrolla en medios bacteriológicos típicos como el agar Trypticase de soya (TSA), Medio Infusión Cerebro-Corazón (BHI), Medio Sal y Manitol, Medio Cloruro de sodio (NaCl) al 5, 6, 6.5 y 7%, y Medio Man, Rogosa & Sharpe (MRS) (Castrejón, 2018).

Se puede aislar desde diversos tejidos como bazo, riñón y cerebro. La bacteria *W.ceti* crece a partir de las 15 a 18 horas con una temperatura de 25 °C (Castrejón, 2018).

Mortalidades masivas de peces asociadas al género *Weissella* sp. fueron reportadas por primera vez en China (Liu *et al.*, 2009) y luego en brotes en piscigranjas de truchas arcoíris de diferentes provincias de Brasil (Figueiredo, 2012). Al siguiente año, en Estados Unidos, se analizó la secuencia genómica de *Weissella ceti*, siendo reconocido como un patógeno que causó mortalidades en piscigranjas de truchas arcoíris. (Welch 2013)

La aparición de *Weissella ceti* en tres continentes durante un período corto de aproximadamente 5 años sugiere que la *Weisselosis* es una enfermedad emergente en la truchicultura. La comparación de las secuencias del genoma de las cepas de EE. UU., Brasil y China fue necesaria para comprender la relación evolutiva entre las cepas y, además, puede proporcionar información sobre la reciente aparición de este patógeno.

Castrejón (2018) reporta por primera vez a *Weissella ceti* en piscigranjas de México, realizando pruebas bioquímicas, análisis histopatológico y confirmando mediante prueba molecular (PCR).

Las bacterias que se obtuvieron de truchas de México mostraron ser fenotípicamente homogéneas, y en general parecidas a las aisladas de China, Brasil y Norteamérica, siendo similares en cuanto a crecimiento en diferentes medios de cultivo y su descripción fenotípica. En los cuatro países donde fue reportada la enfermedad, las cepas han mostrado alta similitud. (Castrejón, 2018)

A los años siguientes Vásquez y colaboradores (2020) presentaron el primer reporte de *Weissella ceti*, según aislamiento microbiológico, análisis molecular, caracterización macroscópica y microscópica en piscigranjas de Colombia, la cual causó severas mortalidades en criaderos de truchas en Colombia entre mayo de 2016 y junio de 2019.

En ese mismo año Medina *et al.* (2020), describen por primera vez en Perú a *Weissella ceti* causante de mortalidades del 60 % de las piscigranjas de truchas arcoíris provenientes del Lago Titicaca en Puno.

2.4. RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) actualmente se considera un problema de salud pública mundial y los agentes antibióticos se han quedado rezagados con respecto al aumento de este fenómeno. Se están investigando nuevas alternativas con propiedades similares a los antibióticos, como los péptidos antimicrobianos, bacteriófagos, etc.

La resistencia bacteriana es un proceso que se presenta en la naturaleza de manera natural, sin embargo, esta se puede acelerar debido al mal uso de los antibióticos ya sea cuando se usa para el tratamiento de patologías infecciosas humanas o para la producción animal, también como uso terapéutico, preventivo o promotor de crecimiento (Livermore, 2005).

Los animales acuáticos son susceptibles a enfermedades infecciosas; por lo tanto, los antibióticos se utilizan amplia e intensamente con fines tanto profilácticos como terapéuticos (Sapkota *et al.*, 2008). El hallazgo de residuos de antibióticos en ambientes de acuicultura y alimentos acuáticos plantea preocupaciones de salud pública sobre la cadena alimentaria. Furushita *et al.* (2003) informaron que los genes de resistencia a la tetraciclina en bacterias aisladas de tres piscifactorías diferentes mostraron una gran similitud con los genes aislados de bacterias en humanos. Esto implica que la selección de bacterias resistentes a los antimicrobianos en un entorno marino puede amenazar la salud humana. Muchas especies bacterianas se multiplican lo suficientemente rápido como para duplicar su número cada 20-30 minutos, y su capacidad para adaptarse a los cambios en el medio ambiente y sobrevivir condiciones desfavorables a menudo resultan en el desarrollo de mutaciones que las protegen de la acción de estos fármacos (Hernandez, 2005).

Los antibióticos efectivos en medicina humana, incluyendo oxitetraciclina, florfenicol, sulfamerazina y ormetoprima, se utilizan para el tratamiento de infecciones bacterianas en peces criados comercialmente. (SERNAPESCA,2017)

Los mecanismos involucrados en dicha resistencia incluyen: la alteración de la proteína diana por mutación o inactivación enzimática, la adquisición de genes de otras especies bacterianas que codifican proteínas diana menos susceptibles, al pasar la membrana externa bacteriana, o la extrusión del antimicrobiano de la célula. Estas adaptaciones pueden surgir en bacterias susceptibles como resultado de mutaciones o mediante la transferencia horizontal de genes, ya sea dentro o entre géneros, empleando principalmente elementos genéticos móviles como plásmidos, transposones o integrones (Baltzer y Brown, 2011)

Estudios realizados en *Weissella* sp. han logrado el control de la infección mediante el uso de antibióticos, pero se ha encontrado resistencia hacia varios tipos de estos por parte de la bacteria (Liu *et al*, 2009). De acuerdo con Figueiredo (2015), la bacteria cuenta con genes que codifican proteínas vinculadas a la resistencia a antibióticos.

2.5. PÉPTIDO ANTIMICROBIANO (AMP)

Los péptidos antimicrobianos constituyen un mecanismo de defensa inmune con baja antigenicidad (Iwasaki *et al.*, 2009).

Los AMP son moléculas pequeñas y generalmente anfipáticas, la mayoría de ellas contiene residuos catiónicos hidrofóbicos en proporción elevada, por lo tanto, son capaces de interactuar con las membranas microbianas mediante interacciones no específicas con las membranas lipídicas (Chan *et al.*, 2006; Nguyen *et al.*, 2011) (Figura 1).

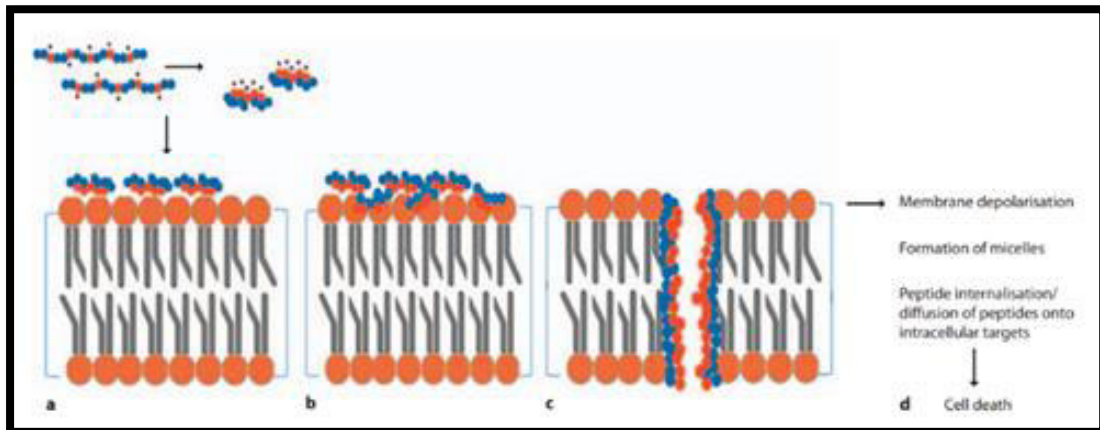


Figura 1. Modelo Shai- Matsuzaki-Huang para el mecanismo de acción de los PAM. Representación esquemática de la agregación de péptidos e interacción con la membrana celular (a), desplazamiento de lípidos inducido por péptidos (b) e inserción de péptidos en la bicapa lipídica de la membrana (c) seguido de la eventual muerte celular (d).

Estos péptidos pueden generarse *in vitro* mediante hidrólisis enzimática (Figura 2)

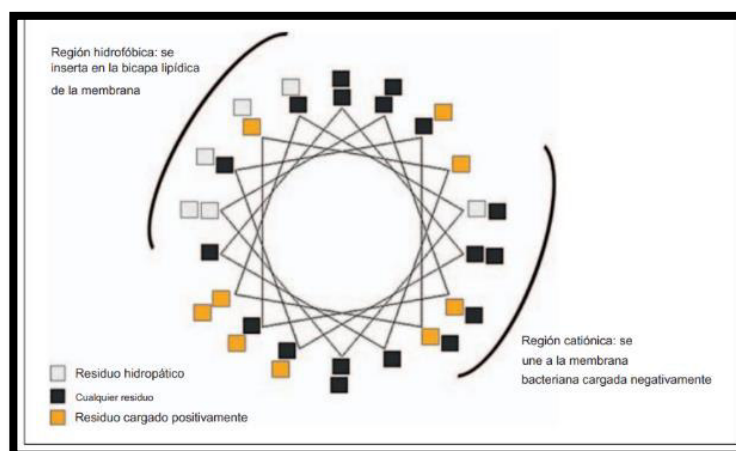


Figura 2. Diagrama circular que muestra la distribución de aminoácidos de un péptido modelo hipotético. Este péptido modelo adopta una estructura helicoidal, con una distribución de aminoácidos cargados positivamente en un lado de la molécula y aminoácidos hidrofóbicos en el otro lado. (Fuente: Céspedes *et al.*, 2006)

Además, los péptidos antimicrobianos pueden diferir en diferentes aspectos como el tamaño, la secuencia de aminoácidos y estructura; sin embargo, todos están genéticamente codificados; es decir, un gen codifica para cada péptido específico, independientemente de que éstos puedan tener alguna modificación postranscripcional, como es el caso de las catelicidinas y las α -defensinas (Rivas *et al.*, 2006). Una característica en común de los AMP es primero que poseen carga positiva debido a la presencia de un gran número de aminoácidos básicos (en su mayoría lisina y arginina), y, en segundo lugar, aproximadamente la mitad de los aminoácidos que los conforman son hidrofóbicos. Estos péptidos son producidos por varias especies, incluyendo bacterias, insectos, plantas, vertebrados y han sido reconocidos como moléculas antiguas evolutivas que se han conservado eficazmente en mamíferos. Los AMP producidos por bacterias son denominadas “bacteriocinas”. La ventaja significativa de los AMP reside en el mecanismo global de su acción, que es notablemente diferente de los antibióticos convencionales (Yanmei Li *et al.*, 2012). Según las últimas investigaciones se reporta que casi todos los péptidos antimicrobianos de los peces tienen funciones antibacterianas o bacteriostáticas contra varias cepas gramnegativas y grampositivas y también se ha demostrado que tienen acción contra un espectro más amplio de patógenos, incluidos virus, hongos y parásitos (Yeaman y Yount, 2003).

Entre estos estudios se probó el uso potencial de varios péptidos sintéticos como agentes antimicrobianos en la acuicultura, entre ellos: Caerin1.1, mar europeo bajo Dicentracina (Dic), NK-lisina (NKLP) y NKLP27, los cuales también tenían actividad antiviral, pudiendo inhibir la infección por nodavirus (NNV), virus de la hemorrágica viral (VHSV), virus de la necrosis

pancreática infecciosa (IPNV) y virus de la viremia primaveral de la carpa (SVCV), que son algunos de los virus más devastadores para acuicultura. Sin embargo, su eficacia depende en gran medida del tipo de virus (Azqargota *et al.*, 2015).

2.5.1. Péptido ssIL-8 α

Últimamente, Santana y colaboradores (2018) sintetizaron AMPs derivados del extremo C-terminal de la quimioquina IL-8 del salmón atlántico (*Salmo salar*) (ssIL-8 α) y de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) (OmIL-8). Estos péptidos son producidos por diversos tipos de células como macrófagos, neutrófilos y células epiteliales (Rebl *et al.*, 2014). Ambos péptidos mostraron la capacidad de inhibir en un 50% a *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa* por debajo de 30 μ M de concentración. En el caso de *Staphylococcus aureus*, se inhibió a concentraciones superiores a 60 μ M. Estos datos demuestran que los péptidos sintéticos tienen gran actividad antibacteriana, importante contra los patógenos de los peces y apuntan a su uso como agentes terapéuticos potenciales en la acuicultura.

En este trabajo se usó al péptido antimicrobiano ssIL-8 α contra la bacteria *Weissella ceti* que afecta potencialmente a las truchas arcoíris.

I. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN Y PERIODO DE DURACIÓN

Se realizó en el Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria, Sección Ictiopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV-UNMSM) entre julio y diciembre del 2022.

3.2 DESCRIPCIÓN DEL MATERIAL EXPERIMENTAL

- Se tomó una cepa de *Weissella ceti* que fue aislada de piscigranjas donde ocurrieron altas mortalidades en el departamento de Puno y la cual se trabajó en el Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria, Sección Ictiopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV-UNMSM).
- Materiales:
 - ✓ Alcohol 70°
 - ✓ Algodón
 - ✓ Tubos de ensayos estériles
 - ✓ Pipeta
 - ✓ Frascos estériles de 250 mL
 - ✓ Ansa
 - ✓ Placas de 96 pocillos con tapa, para cultivo celular.
 - ✓ Tubos de 2mL, de fondo redondo
 - ✓ Tubos Falcon de 15 mL
 - ✓ Gradillas
 - ✓ Puntas P10, P100, P1000 estériles
- Equipos:
 - ✓ Cámara de flujo laminar
 - ✓ Centrifuga 6000 rpm por minuto
 - ✓ Pipeta de 50 – 200 μ l y 5 – 50 μ l
 - ✓ Autoclave
 - ✓ Incubadora

- ✓ Agitador
- ✓ Espectrofotómetro
- Medios y reactivos:
 - ✓ TSB
 - ✓ Agar Sangre
 - ✓ Agar TSA
 - ✓ Agua destilada
 - ✓ Agar Muller Hinton suplementado con sangre

3.3 METODOLOGÍA

3.3.1. Identificación y confirmación de *Weissella ceti*

Se realizó la reactivación de la *Weissella ceti* que estuvo en viales congelados y se procedió a ponerlo a temperatura ambiente y extraer con una jeringa de 1ml aproximadamente 0.2 ml y colocarlos en tubos estériles con 10 ml de caldo TSB. Luego se hizo la siembra en agar sangre a una temperatura de 25 °C por 48 horas y posteriormente se evaluó por Tinción Gram y pruebas bioquímicas como prueba de oxidasa y catalasa.

Posteriormente se hizo PCR convencional siguiendo el protocolo ya establecido por el laboratorio de Ictiopatología referenciado por Snyder (2014) para confirmar la identidad de *Weissella ceti* usando los primers Weis F y Weis R que son una región del gen de adhesión plaquetaria de *W. ceti*

3.3.2. Curva de crecimiento de *Weissella ceti*

Confirmado la bacteria se realizó su repique en agar sangre e incubado durante dos días, se recogió la biomasa bacteriana con ansa y se colocó en un tubo de ensayo con 5 ml de caldo TSB. Posteriormente se realizaron diluciones hasta obtener el equivalente a la escala Mc

Farland 5. Con la dilución obtenida se inoculó 1ml en un frasco conteniendo 250 ml de TSB, por triplicado para obtener un resultado más confiable, se homogenizó e incubó a una temperatura de 25 °C con agitación por 1 hora para iniciar la medición de la densidad óptica durante 24 horas. Para cada medición se agitó el frasco con el inóculo y luego se colocó 2ml en las cubetas para medir la absorbancia en el espectrofotómetro (previamente este fue calibrado con un blanco), con estos datos obtenidos se determinó la curva de crecimiento de *Weissella ceti*. (Figura 3 y 4)

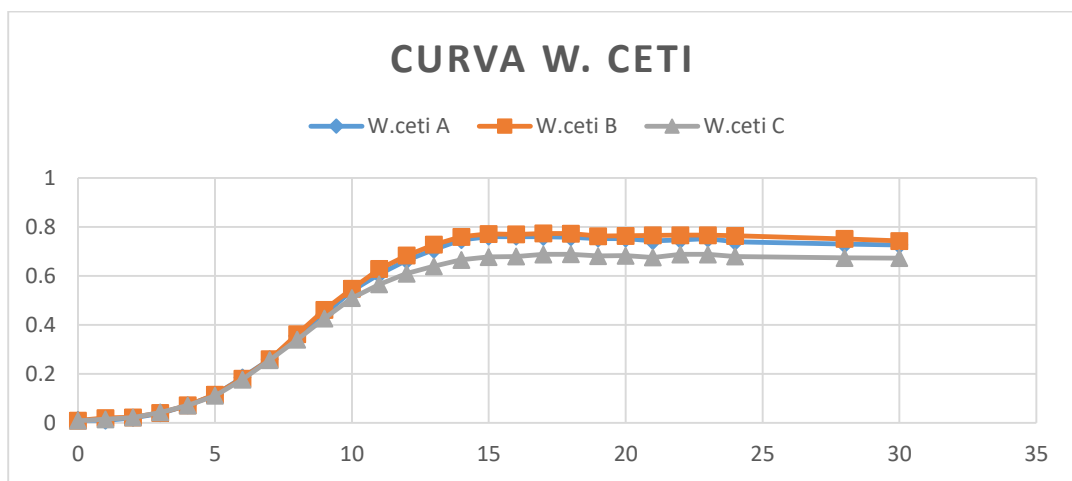


Figura 3. Representación gráfica de la curva de crecimiento de *Weissella ceti* de las tres repeticiones (*W.ceti* A, *W.ceti* B y *W.ceti* C) en función del tiempo (x) y densidad óptica (y)

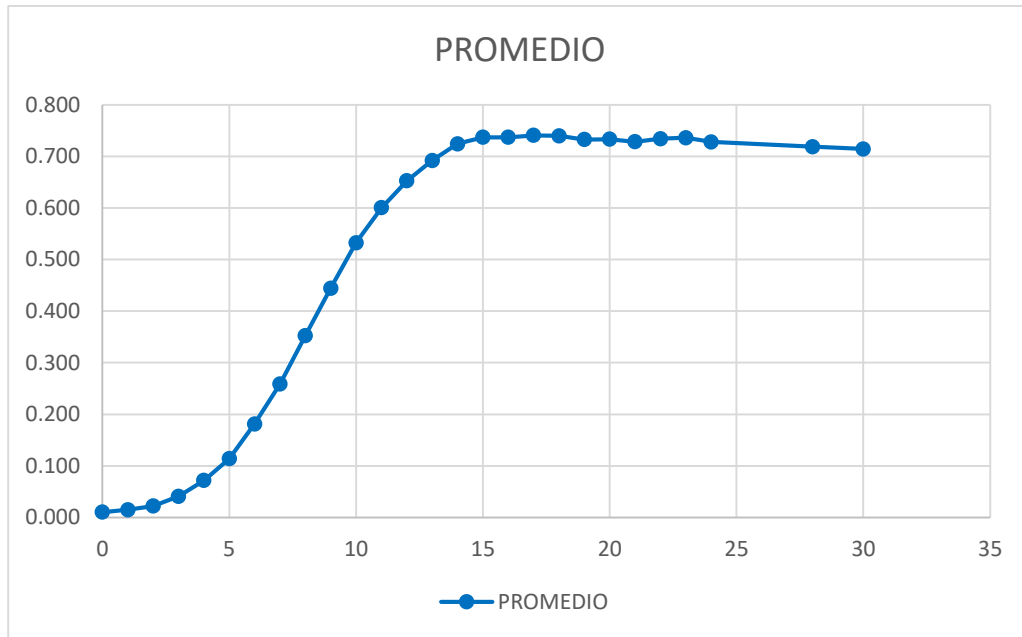


Figura 4. Representación gráfica del promedio de las 3 curvas de crecimiento de *Weissella ceti*.

3.3.3. Conteo de UFC (Unidad formadora de colonias)

Se reactivó la cepa de *Weissella ceti* tal como se explicó líneas arriba y se procedió a inocular en un tubo de ensayo con 5ml de caldo TSB. Luego se comparó la turbidez de la cepa sembrada en caldo TSB con la escala 3 de Mc Farland. Se inoculó 1ml en un frasco de 250 ml de caldo TSB y posteriormente se hizo la preparación de 9 tubos de ensayo con 9 ml de PBS y 27 placas Petri con medios de cultivo TSA.

Se observó la curva de crecimiento realizada previamente y se tomó dos puntos el inicio y final de la fase exponencial. A partir de las 5 hasta las 12 horas en esos dos puntos se realizó las diluciones. Para la primera dilución 1/10 se extrajo 1 ml de caldo sembrado con la bacteria y se colocó en un tubo que tenía 9 ml de PBS, el cual se homogenizó bien y se extrajo 1 ml para colocarlo en el siguiente tubo 1/100; de esta misma manera se realizó con los siguientes tubos.

Se colocó 3 placas con medio de cultivo TSA para cada dilución y posteriormente se extrajo 0.1 ml de una de las diluciones y se colocó en la placa desde la dilución mayor hasta la más concentrada y se diseminó la gota por todo el medio con un ansa Digrafsky estéril.

Lo mismo se realizó con todas las diluciones, colocando 0.1 mL por placa con diferentes pipetas luego se dejó incubando por 24 – 48 horas para posteriormente realizar el conteo de colonias en la placa donde el número de colonias se encuentre en el rango 30 – 300 (Figura 5).

Usando la siguiente fórmula se realizó la ecuación.

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ UFC}}{\text{ml sembrado}} \times \text{FD inversa} = \text{UFC}$$

ml sembrado

FD: Factor de dilución

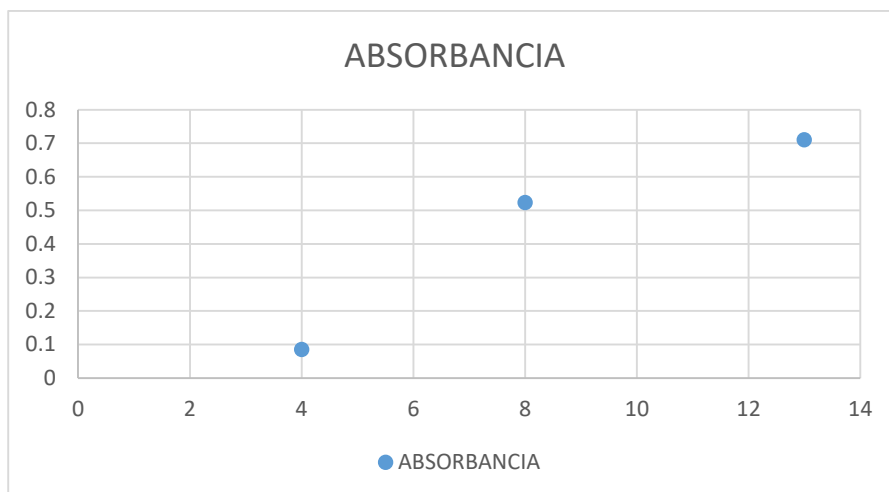


Figura 5. Representación gráfica del conteo de UFC de *Weissella ceti* en función del tiempo (x) y densidad óptica (y)

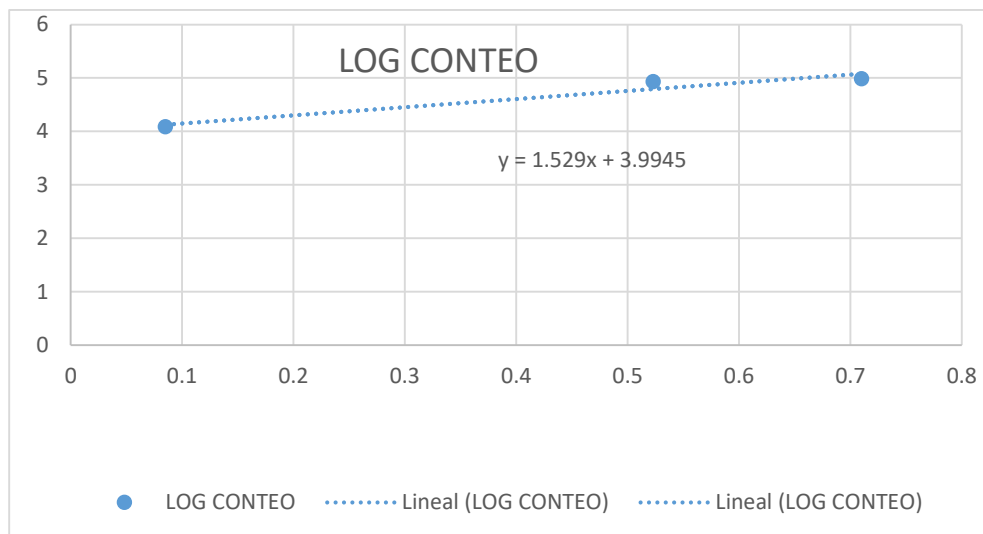


Figura 6. Representación gráfica que relaciona el Logaritmo de las UFC con la absorbancia donde se genera una línea recta.

3.3.4 Ensayo en las micro placas donde se retaron a la bacteria con el péptido

Se prepararon los medios (TSA y TSB) e iniciamos con el cultivo de la *Weissella ceti* y *Escherichia coli* en medio TSB por 12 horas a la temperatura óptima de crecimiento (25 °C) y luego su resiembra hasta que llegue a su fase exponencial que empieza a partir de las 5 horas. Después de eso, el cultivo se diluyó 100 veces con TSB e incubó a una temperatura de 25°C y velocidad de 200 rpm hasta obtener un DO600 de fase de registro medio.

Las bacterias fueron resuspendidos en HEPES 10 mM con TSB al 1% y ajustado a 1×10^7 UFC / mL para *Escherichia coli* según estudio realizado por Santana (2018) y para *Weissella ceti* fue de 3×10^6 UFC / mL ya que se aproximó de acuerdo a su curva de crecimiento en la mitad de su fase exponencial.

A continuación, las bacterias se lavaron y recuperaron por centrifugación a 3800 g durante 2 min. Los gránulos resultantes fueron resuspendido en TSB al 1% en HEPES 10 mM y ajustado a 1×10^7 UFC/mL (entre 0,1 y 0,7 corresponden a 1×10^7 UFC/mL) y para *Weissella ceti* 3×10^6 UFC / mL que corresponde a 0.3 de OD. Luego se expusieron a concentraciones de péptido 10 – 100 μ M por 1h en temperatura óptima de crecimiento de 25°C en 50 μ L de 1%TSB en 10 mM

HEPES. Se sembró en microplacas de 96 pocillos siguiendo el siguiente modelo que se indica en el cuadro 1.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
	Control de esterilidad	Control positivo	10 uM	20 uM	30 uM	40 uM	50 uM	60 uM	70 uM	80 uM	90 uM	100 uM	MEDIOS
	A	40 µl 5 µl	35 µl 5 µl	35 µl	35 µl	35 µl	35 µl	35 µl	35 µl	35 µl	35 µl	35 µl	
B													
C	45 µl 5 µl	35 µl 5 µl	35 µl	35 µl	35 µl	35 µl	35 µl	35 µl	35 µl	35 µl	35 µl	35 µl	HEPES + TSB 1% Agua Péptido <i>W. cetii</i>
D													

Cuadro 1. Modelo para sembrar en la micro placa de 96 pocillos.

Siguiendo la exposición, los cultivos de bacterias se diluyeron diez veces con el mismo buffer y se incubó durante 24 h a 25 °C en medio TSB fresco. Unos 50 µL de los cultivos que fueron diluidos se cultivaron en el medio tripticasa de soya (TSA), la cual cada dilución se sembró por placa. Se realizaron dos repeticiones del ensayo para *Weissella cetii* y *Escherichia coli*

3.4 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

- Todos los valores se analizaron con estadística descriptiva.

II. RESULTADOS

Se realizaron los conteos de las unidades formadoras de colonias en las placas sembradas con el inóculo de las diferentes diluciones del péptido contra las bacterias *W. ceti* y *E. coli* después de 24 horas.

- Para *Weissella ceti* se observó que el péptido ssIL-8 α , a medida que aumenta su concentración va evidenciando una inhibición de la cantidad de unidades formadoras de colonias, tal como se presenta en el cuadro 2.

Control +	10 uM	20 uM	30 uM	40 uM	50 uM	60 uM	70uM	80 uM	90uM	100 uM
1 ENSAYO										
3000000	320	130	40	25	9	6	6	6	4	3
30000000	3000	1300	400	250	90	60	60	60	40	30
2 ENSAYO										
3000000	350	180	180	141	75	44	30	71	14	NO CRECIÓ
30000000	3000	1800	1800	1410	750	440	300	710	140	0

Cuadro 2. Conteo de Unidades formadoras de colonias (UFC) de placas sembradas a diferentes concentraciones del péptido ssIL-8 α enfrentadas a *Weissella ceti*.

- Para la *Escherichia coli* se evidenció que el péptido ssIL-8 α a medida que aumenta su concentración va inhibiendo la cantidad de unidades formadoras de colonias, tal como se presenta en el cuadro 3.

Control +	10 uM	20 uM	30 uM	40 uM
1 ENSAYO				
10000000	200	15	5	0
100000000	2000	150	50	0

2 ENSAYO				
10000000	300	1	9	0
100000000	3000	10	90	0

Cuadro 3. Conteo de Unidades formadoras de colonias (UFC) de placas sembradas a diferentes concentraciones del péptido ssIL-8 α enfrentadas a *E. coli*.

La evaluación de la actividad antibacteriana del péptido sintético saIL-8 α se realizó usando el programa Excel como se muestra en la Fig. 8, a 10 μ M de saIL-8 α , el péptido sintético mostró una aparente actividad contra la bacteria grampositiva *Weissella ceti*.

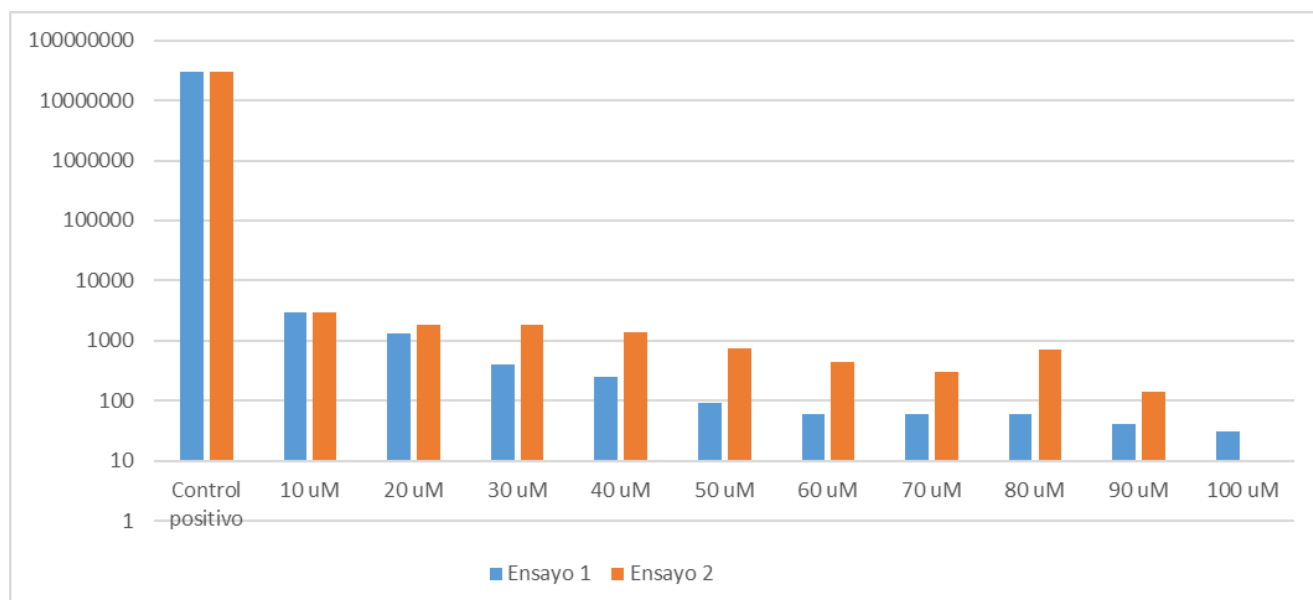


Figura 8. Actividad antibacteriana del péptido ssIL-8 α frente a la bacteria *Weissella ceti*. La cepa bacteriana se expuso a diferentes concentraciones (10–100 μ M) del péptido sintético ssIL-8 α . En el eje x se tiene a las repeticiones del enfrentamiento y en el eje Y se tiene la cantidad de bacterias.

La evaluación de la actividad antibacteriana del péptido sintético saIL-8 α se realizó usando el programa Excel como se muestra en la Fig. 9, a 20 μ M de saIL-8 α , el péptido sintético mostró una fuerte actividad contra la bacteria gram negativa *E. coli*.

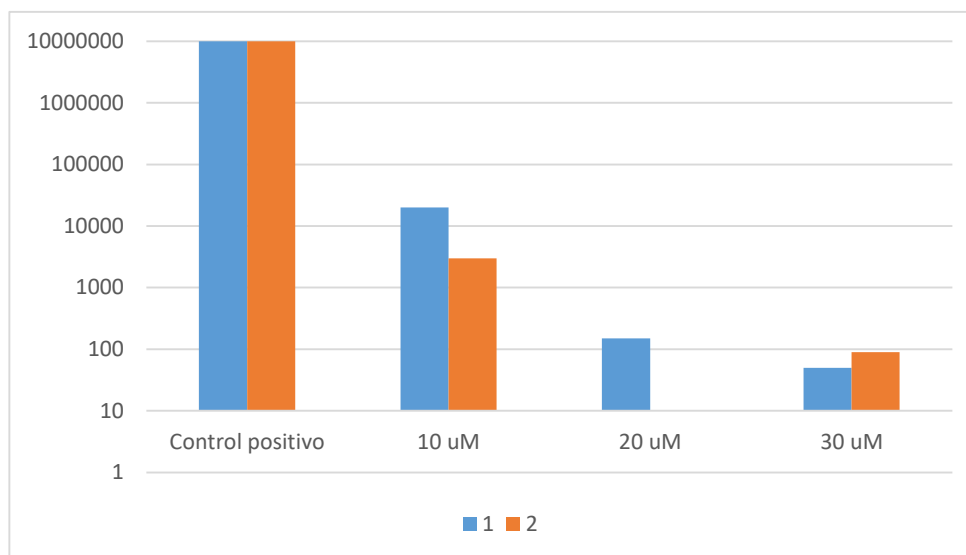


Figura 9. Actividad antibacteriana del péptido ssIL-8 α frente a bacterias a *E. coli*. La cepa bacteriana se expuso a diferentes concentraciones (10–100 μ M) del péptido sintético ssIL-8 α .

III. DISCUSIÓN

En este trabajo se evaluó el efecto antimicrobiano del péptido ssIL-8 α contra una cepa de *Weissella ceti* del Perú, siendo esta bacteria causante de mortalidades masivas, obteniéndose resultados donde el péptido empezó a evidenciar un efecto inhibitorio contra la bacteria. Los resultados mostraron actividad bactericida dosis dependiente, alcanzando su mayor efecto a la concentración de 100 μ M. Estos resultados son muy parecidos con la investigación de Santana y colaboradores (2018), donde evaluaron el efecto del péptido ssIL-8 α contra la bacteria gram positiva *S. aureus*, donde a una concentración de 60 μ M redujo la carga bacteriana y a una

concentración de 100 μM no hubo crecimiento. Analizando esta comparación se evidencia que el péptido ssIL-8 α va en tendencia a funcionar muy bien contra bacterias grampositivas.

Al realizar el experimento se validó el protocolo con la bacteria *E. coli* usando como referencia los estudios de Santana *et al.*, (2018), donde se retó a esta con el péptido ssIL-8 α obteniéndose el mismo resultado de concentración mínima inhibitoria MIC de 20 μM , y una concentración máxima bactericida de 30 μM .

En estudios recientes que han utilizado péptidos antimicrobianos retados con bacterias patógenas causantes de mortalidades en la acuicultura como el estudio de Sáenz – Martínez *et al.*, (2021) también retaron a la bacteria grampositiva *S. aureus* contra el péptido sintético omil-8 α 80-97 mostrando efecto bactericida a partir de 10 μM . En el mismo estudio también se retó contra bacterias gramnegativas, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *A. salmonicida*, donde a una concentración de 30 μM se observó una fuerte actividad antibacteriana; aunque el efecto fue menor contra la bacteria gramnegativa *Y. ruckeri*, donde no hubo inhibición bactericida.

Fernandes *et al.*, (2003) demostraron que la Oncorincina III, AMP derivado de histona, aislado y purificado a partir de la secreción mucosa de piel de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), posee una actividad antimicrobiana significativa tanto contra bacterias gram positivas como *A. viridans* (0.06 μM – 0.12 μM), *B. subtilis* (0.25 μM – 0.5 μM), *M. luteus* (0.12 μM – 0.25 μM), *P. citreus* (0.06 μM – 0.12 μM) y bacterias Gram negativas como *A. hydrofila* (>0.5 μM), *A. salmonicida 004* (>0.5 μM), *E. coli* (0.25 – 0.5), *L. anguillarum* (0.25 μM – 0.5 μM). Comparando con nuestro estudio se observa que para *Weissella ceti* fue necesario utilizar una concentración mayor del péptido ssIL 8 para que exista el efecto inhibitorio. Otros estudios de tipo *in vitro* que usaron péptidos antimicrobianos como Caerin1.1, NKLP27, Dic y NKLP, donde se evaluó la actividad antibacteriana y antiviral contra importantes bacterias que afectan al humano y animales. Entre estas bacterias tenemos a las gram negativas *Aeromonas*

salmonicida CECT 894T y *E. coli*, además de la grampositiva *S. aureus*, dichas bacterias fueron muy sensibles al péptido Caerin 1.1 por el método de difusión en agar y mostró la mayor actividad antibacteriana seguida por Dic y NKLP, sin embargo, ninguno de los péptidos antimicrobianos estudiados ejercieron actividad bactericida contra *A. salmonicida* (León *et al.*, 2019).

Estos resultados son muy alentadores ya que confirman que los péptidos antimicrobianos poseen la capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias grampositivas y gramnegativas.

Los péptidos antimicrobianos son una gran fuente de investigación incluso para la salud humana donde ya se han realizado diversos estudios de ello, tenemos a uno donde se identificó dos péptidos antimicrobianos derivados de la glicoproteína extracelular lacritina. Según el análisis de la actividad antimicrobiana se reveló que estos pueden inhibir el crecimiento de bacterias Gram-positivas como *S. aureus* y Gram-negativas *P. aeruginosa* (Azkargorta *et al.*, 2015).

Un estudio reciente realizado en cultivo de tilapias comprueba que usando los péptidos antimicrobianos logró reducir la cantidad de genes de resistencia en el músculo del pez, en el agua y residuos, en comparación a usar solo antibióticos (Lu *et al.*, 2022).

Los resultados que se obtuvieron en nuestro estudio cumplen la hipótesis planteada que el péptido ssIL-8 α tiene aparente acción antimicrobiana contra la bacteria *Weissella ceti*, dando un resultado alentador para la acuicultura ya que se presentan como una alternativa frente a los efectos negativos en el medio ambiente y la resistencia que se producen en animales y el hombre por el uso inadecuado e irracional de los antibióticos.

Como otros organismos, los peces segregan diferentes tipos de péptidos antimicrobianos (AMP), los cuales pueden ser utilizados en investigaciones en la industria farmacéutica en su búsqueda de nuevos medicamentos para tratar patógenos resistentes a los antimicrobianos.

IV. CONCLUSIONES

- El péptido ssIL-8a mostró efecto bactericida contra *W. ceti* desde la concentración más baja empleada.
- El efecto bactericida fue dosis dependiente.

V. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar más ensayos que incluyan más diluciones del péptido para establecer el punto de corte terapéutico.

VI. BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. **Aquino G. 2009.** Manual básico para el cultivo de truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Oaxaca, México: GEM TIES. 24p
2. **Azkargorta M, Soria J, Ojeda C, Guzman F, Acera A, Iloro I, Suárez T, Elortza F. 2015.** Human basal tear peptidome characterization by CID, HCD and ETD followed by *in silico* and *in vitro* analyses for antimicrobial peptide identification. Journal of Proteome Res. 14(6):2649-58. doi: 10.1021/acs.jproteome.5b00179

3. **Baltzer S, Brown M. 2011.** Antimicrobial Peptides – Promising Alternatives to Conventional Antibiotics. *Journal of Molecular Microbiology Biotechnology* 20:228–235. doi: 10.1159/000331009
4. **Castrejón-Nájera J, Ortega C, Fajardo R, Irgang R, Tapia-Cammas D, Poblete-Morales M, Avendaño-Herrera R. 2018.** Isolation characterization, virulence potential of *Weissella ceti* responsible for weissellosis outbreak in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in Mexico. *Transbound Emerg Dis*. Dec;65(6):1401-1407 doi: 10.1111/tbed.12978
5. **Chan D, Prenner E, Vogel H. 2006.** Review Tryptophan- and arginine-rich antimicrobial peptides: Structures and mechanisms of action. Structural Biology Research Group, Department of Biological Sciences. doi: [10.1016/j.bbamem.2006.04.006](https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2006.04.006)
6. **Cruz, M., Vásquez, D., García, D, Maguiña J. 2020.** El comercio exterior de productos acuícolas en el Perú. *Revista de Economía Pesquera*, 22(1), 97-108.
7. **FAO. 2022.** El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022. Hacia la transformación azul. Roma, FAO.[INTERNET] [20 marzo] <https://doi.org/10.4060/cc0461es>
8. **Fernandes J, Saint N., Kemp G, Smith V. 2003.** Oncorhyncin III: a potent antimicrobial peptide derived from the non-histone chromosomal protein H6 of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Biochemical Journal*, 373 (2), 621–628. doi: 10.1042 / bj20030259
9. **Fernández M, García L, Ruiz R. 2020.** Percepción y hábitos de consumo de productos acuícolas en la población peruana. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 31(1), 57-66.
10. **Figueiredo HCP., Costa FAA., Leal CAG, Carvalho –Castro GA., Leite RC. 2012.** *Weissella* sp. outbreaks in commercial rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Brazil. *Vet. Microbiol.* 156, 359–366. doi:10.1016/j.vetmic.2011.11.008.

11. **Figueiredo HCP, Soares SC, Pereira FL, Dorella FA, Carvalho AF, Teixeira JP, Azevedo VAC, Leal CAG. 2015.** Comparative genome analysis of *Weissella ceti*, an emerging pathogen of farm-raised rainbow trout. *BMC Genomics* 16, 1095. doi:10.1186/s12864-015-2324-4.
12. **Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero. 2004.** Manual de cultivo de trucha arcoíris en jaulas flotantes. programa de transferencia de tecnología en acuicultura para pescadores artesanales y comunidades campesinas. Edición, junio 2004. 1-120. http://www2.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/ACUISUBMENU4/manua_trucha_jaulas.pdf
13. **Fondo Nacional de Desarrollos Pesquero. 2014.** Manual de crianza de trucha arcoíris en ambientes convencionales. Edición, octubre 2014. 1-71. https://www.fondepes.gob.pe/src/manuales/MANUAL_TRUCHA.pdf
14. **Furushita M, Shiba T, Maeda T, Yahata M, Kaneoka A, Takahashi Y, Torii K, Hasegawa T, Ohta M. 2003.** Similarity of tetracycline resistance genes isolated from fish farm bacteria to those from clinical isolates. *Appl Environ Microbiology* ;69(9):5336-42. doi: 10.1128/AEM.69.9.5336-5342.2003
15. **Fusco V, Quero GM, Cho G-S, Kabisch J, Meske D, Neve H, Bockelmann W, Franz CMAP. 2015.** The genus *Weissella*: taxonomy, ecology and biotechnological potential. *Front. Microbiol.* 6:155. doi: 10.3389/fmicb.2015.00155
16. **Hernández Serrano, P. 2005.** Responsible use of antibiotics in aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper.* 97p.
17. **Iwasaki T, Ishibashi J, Kubo M, Taylor D, Yamakawa M. 2009.** Multiple Functions of Short Synthetic Enantiomeric Peptides Based on Beetle Defensins. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Vol 73, 3, 83 – 87. doi: 10.1271/bbb.80735

18. **Keymanesh K., Soltani S. Sardari S. 2009.** Application of antimicrobial peptides in agriculture and food industry. *World J Microbiol Biotechnol* 25, 933–944. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-9984-7>
19. **Kleeberg F, Rojas M. 2012.** Pesquería y acuicultura en el Perú. Lima, Perú: Ed. Universidad de Lima. 286 p.
20. **Ladner JT, Welch TJ, Whitehouse CA, Palacios G.F. 2013.** Genome sequence of *Weissella ceti* NC36, an emerging pathogen of farmed rainbow trout in the United States. *Genome Announc.* 1, e00187-12. <https://10.1128/genomeA.00187-12>.
21. **León R, Ruiz M, Valero Y, Cárdenas C, Guzmán F, Vila M, Cuesta A. 2019.** Exploring small cationic peptides of different origin as potential antimicrobial agents in aquaculture. *Fish and Shellfish Immunology* (2019). <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.11.019>
22. **Liu JY, Li AU, Ji C, Yang WM. 2009.** First description of a novel *Weissella* species as an opportunistic pathogen for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in China. *Veterinario. Microbiol.* 136, 314–320
23. **Livermore D M. 2005.** Minimizing antibiotic resistance. *The Lancet infectious diseases*, 5(7), 450-459
24. **Lu J, Zhang Y, Wu J, Wang J. 2022.** Intervention of antimicrobial peptide usage on antimicrobial resistance in aquaculture. *Journal of Hazardous Materials.* 427, 9 p. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2021.128154](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.128154)
25. **Medina M, Fernandez-Espinel C, Sotil G. 2020.** First description of *Weissella ceti* associated with mortalities in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Peru. *Aquaculture* (2020) <https://doi.org/10.1016/j.aquacultura.2020.735608>
26. **Mendoza D, Berger C, Berger K. 2016.** LA ACUICULTURA PERUANA – UNA MIRADA AL 2025 (THE PERUVIAN AQUACULTURE - A LOOK AT 2025). Perú. 21p

27. **Mesías Valle FD. 2019.** Análisis genotípico y fenotípico de la resistencia antimicrobiana de *Yersinia ruckeri* procedente de truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de cultivo de cuatro departamentos de la sierra del Perú. Tesis maestría. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima. 77.p
28. **Ministerio de la producción. 2021.**Anuario Estadístico Pesquero y Acuicola 2021.Lima.188p
29. **Nguyen L, Schibli D, Vogel H. 2005.** Structural studies and model membrane interactions of two peptides derived from bovine lactoferricin. J. Pept. Sci. 11.379–389. DOI: [10.1002/psc.629](https://doi.org/10.1002/psc.629)
30. **PRODUCE. 2015.** Anuario estadístico pesquero y acuícola 2015. Lima: PRODUCE. Informes anuales estadístico. 196 p.
31. **Rebl A.** Rebl H, Korytar T, Goldammer T, Seyfert H. 2014. The proximal promoter of a novel interleukin -8-encoding gene in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is strongly induced by CEBPA, but no NF- KB p65. *Developmental and Comparative Immunology*,46(2), 155-164. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2014.03.024>
32. **Rivas-Santiago B, Sada E, Hernández-Pando R, Tsutsumi V. 2006.** Péptidos antimicrobianos en la inmunidad innata de enfermedades infecciosas. *Salud Publica Mex* 2006;48:62-71.
33. **Saenz-Martínez D., Santana P., Arostica M, Forero JC, Guzmán FC, Mercado L. 2021.** Immunodetection of rainbow trout IL-8 cleaved-peptide: Tissue bioavailability and potential antibacterial activity in a bacterial infection context. *Developmental and Comparative Immunology* 124 (2021) 104182 <https://doi.org/10.1016/j.dci.2021.104182>
34. **Sánchez J, Villarreal H, Rodríguez E, Quiroz R. 2021.** La acuicultura en el Perú: situación actual y perspectivas. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(1), 25-36.

35. **Sapkota A, Sapkota AR, Kucharski M, Burke J, McKenzie S, Walker P, Lawrence R. 2008.** Aquaculture practices and potential human health risks: current knowledge and future priorities. *Environ Int.* ;34(8):1215-26. doi: 10.1016/j.envint.2008.04.009.
36. **Santana P.A., Salinas N, Álvarez C.A, Mercado L.A. Guzmán F. 2018.** Alpha-helical domain from IL-8 of salmonids: Mechanism of action and identification of a novel antimicrobial function. *Biochemical and Biophysical Research Communications.*
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.03.061>
37. **Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, Subdirección de Acuicultura, Departamento de Salud Animal.2017.** Informe sobre uso de antimicrobianos en la salmonicultura nacional 2016.
38. **Sierralta V, León J, De Blas I, Bastardo A, Romalde J, Castro T, Mateo E. 2013.** Patología e identificación de *Yersinia ruckeri* en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en piscigranjas de Junín, Perú. *Revis AquaTIC* 38: 28-45.
39. **Shabir U, Ali S, Magray A, Ganai B, Firdous P, Hassan T, Nazir R. 2018.** Fish antimicrobial peptides (AMP's) as essential and promising molecular therapeutic agents: A review. *Microbial Pathogenesis*, 114, 50 – 56.
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.11.039>
40. **Snyder AK, Hinshaw JM, Welch TJ. 2014.** Diagnostic tools for rapid detection and quantification of *Weissella ceti* NC36 infections in rainbow trout. *Letters in Applied Microbiology* 60,103–110. doi: [10.1111/lam.12365](https://doi.org/10.1111/lam.12365)
41. **Valero Y, Saraiva – Fraga M, Costas B, Guardiola F.2020.**Antimicrobial peptides from fish; beyond the fight against pathogens. *Reviews in Aquaculture*,12(1), 224 – 253. doi; <https://doi.org/10.1111/raq.12314>
42. **Vásquez G, Rubiano M, Yepes J, Daniel Gordillo D, Avila J. 2020.** Weissellosis in rainbow trout in Colombia. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology* 13(3):575-580

doi:[10.24070/bjvp.1983-0246.v13i3p575-580](https://doi.org/10.24070/bjvp.1983-0246.v13i3p575-580)

43. **Vela AI, Fernandez A, Bernaldo de Quiros Y, Herraes P, Dominguez L. 2011.** *Weissella ceti* sp. nov., isolated from beaked whales (*Mesoplodon bidens*). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 61(11), 2758–2762. doi:[10.1099/ijs.0.028522-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.028522-0)
44. **Welch TJ, Good CM. 2013.** Mortality associated with Weissellosis (*Weissella* sp.) in USA farmed rainbow trout: Potential for control by vaccination, *Aquacult.* 388–391, 122–127. doi: [10.1016/j.aquaculture.2013.01.021](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.01.021)
45. **Welch T, Marancik D, Good Christopher. 2014.** Weissellosis:1–10.
46. **World Organization for Animal Health (WHO).2006.** Report of a joint FAO/OIE/WHO expert consultation on antimicrobial use in aquaculture and antimicrobial resistance: Seoul, Republic of Korea, 13-16 June 2006.
47. **Yanmei Li , Qi Xiang, Qihao Zhang, Yadong Huang , Zhijian Sua. 2012.** Overview on the recent study of antimicrobial peptides: Origins, functions, relative mechanisms and application <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2012.07.001>
48. **Yeaman MR, Yount NY. 2003.** Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacol. Rev.* 55, 27–55.